

### III.METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Pertanian—Peternakan dan Laboratorium Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang. Penelitian ini dimulai pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2020.

#### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

##### 3.2.1 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah talas bentul dari Kecamatan Singosari Kabupaten Malang. Bahan kimia yang digunakan adalah Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, (Bakteri didapatkan dari Laboratorium Agroteknologi Yogyakarta), MRS Broth, aquades, dan bahan untuk analisa garam, Natrium Agar, aquades, petroleum benzene, biuret, larutan NaOH 10%, dan BSA.

##### 3.2.2 Alat

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pengering oven WTCV Binder tipe E53-898749, *cabinet dryer*, blender miyako, loyang, gelas kimia, erlenmeyer, batang pengaduk, kain saring, ayakan 40 mesh dan timbangan analitik *Ohaus Pioneer* PA413. Peralatan analisa yang digunakan aluminium foil, tanur, oven, plastik untuk menimbang, sendok, gelas ukur, termometer, desikator, pipet tetes, gelas kimia *Iwaki*, erlenmeyer, labu lemak *Herma*, vortex Thermo Scientific, *sentrifuge* Caliesys PLC Series, soxlet, cawan petri, petridish, hot plate, spektrofotometer *double beam*, kuvet, tabung reaksi, rak, bunsen, plastik wrap, korek, tube *sentrifuge*, mikropipet, pisau, panci, kompor, dan sendok.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *Nested* (tersarang) dengan 2 faktor terdiri dari faktor I yaitu perbedaan jenis asam laktat sebagai starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) (B) dan faktor II yaitu waktu lama fermentasi (24; 48; 72; dan 96 jam) (C) masing-masing dengan 2 kali ulangan. Parameter yang diuji yaitu uji TPC untuk penentuan padatan bakteri pada starter yang digunakan, rendemen, *swelling power*, karbohidrat, lemak, protein, kadar air, kadar abu, serta perlakuan terbaik dilanjutkan uji SEM.

Adapun matriks dari rancangan penelitian dapat terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Percobaan

Jenis Starter	Waktu Fermentasi	Ulangan	
		I	II
Kontrol (B1) <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	24 jam	K1	K2
	C2 (24 jam)	B1(C2)	B1(C2)
	C3 (48 jam)	B1(C3)	B1(C3)
	C4 (72 jam)	B1(C4)	B1(C4)
	C5 (96 jam)	B1(C5)	B1(C5)
(B2) <i>Streptococcus thermophilus</i>	C2 (24 jam)	B2(C2)	B2(C2)
	C3 (48 jam)	B2(C3)	B2(C3)
	C4 (72 jam)	B2(C4)	B2(C4)
	C5 (96 jam)	B2(C5)	B2(C5)

Keterangan :

K1 : Tanpa penambahan asam laktat yang difermentasi selama 24 jam

B1(C2): Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang difermentasi selama 24 jam

B1(C3): Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang difermentasi selama 48 jam

B1(C4): Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang difermentasi selama 72 jam

B1(C5): Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang difermentasi selama 96 jam

B2(C2): Bakteri *Streptococcus thermophilus* yang difermentasi selama 24 jam

B2(C3): Bakteri *Streptococcus thermophilus* yang difermentasi selama 48 jam

B2(C4): Bakteri *Streptococcus thermophilus* yang difermentasi selama 72 jam

B2(C5): Bakteri *Streptococcus thermophilus* yang difermentasi selama 96 jam

### 3.4 Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi tiga tahap yaitu :

#### 1. Pembuatan Tepung Talas

Proses pembuatan tepung talas diawali dengan pencucian dan pengupasan umbi segar, lalu diiris. Pengirisan dimaksudkan untuk mempercepat pada proses pengeringan. Dilakukan perendaman larutan air garam 5%. Perendaman ini bertujuan untuk mengurangi kadar asam oksalat yang terdapat pada daging umbi talas. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan suhu 55°C, kemudian digiling untuk menghasilkan tepung talas yang seragam dan dilakukan pengayakan. (Tuti, 2018)

#### 2. Pati Alami

Penelitian ini menggunakan ubi talas, dikupas ubi talas kemudian dicuci dengan aquades, dicuci kemudian diiris tipis dan ditimbang sebanyak 150 gram setelah itu dilakukan perendaman dengan perbandingan larutan garam 15% dengan jumlah air 15 gram dalam 300 mL air selama 2 jam. Kemudian dilakukan pengeringan dengan oven selama 24 jam pada suhu 55°C. Lalu dihaluskan dengan blender kering dan dilakukan perendaman dengan perbandingan air 1:3 selama 24 jam. Kemudian disaring untuk mendapatkan pati dan ditiriskan, dikeringkan, ditumbuk sampai menjadi halus serta diayak.

#### 3. Pati Fermentasi (Wira, dkk. 2015)

##### a. Pembuatan Starter Fermentasi

Tepung talas sebanyak 25 gram diletakkan pada gelas piala, dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 250 gram. Setelah semua tepung terendam, ditambah campuran bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus*

*thermophilus*) sebanyak 5 mL dan kultur media MRS Broth sebanyak 7,5 gram. Dan dibiarkan selama 24 jam

b. Fermentasi

Tepung talas sebanyak 45 gram dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan dengan kultur starter (*Lactobacillus bulgaricus*  $1,7 \times 10^9$  CFU dan *Streptococcus thermophilus*  $0,1 \times 10^9$  CFU) sebanyak 2,4 mL, aquades 240 mL, dan media MRS Broth sebanyak 4,8 gram pati talas oleh kultur. Starter yang digunakan 1% (v/v). Fermentasi dilakukan selama 24 jam; 48 jam; 72 jam; dan 96 jam.

c. Penyaringan

Kemudian dilakukan penyaringan hingga 3 kali dengan perbandingan penambahan air matang 1:3.

d. Perendaman

Lalu diendapkan selama 24 jam. Setelah itu, endapan diambil dengan cara membuang air limbah yang di atas secara perlahan.

e. Pengeringan

Pengeringan pada oven selama 24 jam dengan suhu 50°C,

f. Penghalusan

Penghalusan menggunakan blender kering, dan

g. Pengayakan pati talas

Pengayakan dilakukan dengan menggunakan ayakan 40 mesh.

Tahap terakhir adalah analisa karakteristik fisiko kimia: meliputi rendemen, *swelling power*, lemak, protein, kadar air, kadar abu, karbohidrat, dan bentuk permukaan granula pati (*Scanning Electrone Microscope*).

### 3.5 Prosedur Analisa

#### 3.5.1 Rendemen (Amin, dkk. 2007)

1. Talas basah ditimbang sebanyak 150 gram
2. Talas dijadikan tepung
3. Tepung talas dilakukan fermentasi dengan asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan pati dikeringkan
4. Perhitungan Rendemen (%) :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir (pati talas)}}{\text{Berat awal (talas basah)}} \times 100\%$$

#### 3.5.2 Kadar Air (AOAC, 2006)

1. Bahan ditimbang sebanyak 2 gram
2. Bahan yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam cawan porselen yang sudah ditimbang
3. Cawan berisi bahan dikeringkan ke dalam oven selama 5 jam dengan suhu 100°C
4. Cawan porselen didinginkan dari oven dalam desikator dan menunggu selama 15 menit
5. Cawan porselen ditimbang dan dicatat berat
6. Perhitungan Kadar Air (%) :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

#### 3.5.3 Kadar Abu (AOAC, 2006)

1. Cawan porselen dipanaskan dalam oven selama 15 menit, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang
2. Sebanyak 2 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen dan ditimbang, diabukan dalam tanur bersuhu 200°C selama 4 jam



3. Kemudian didinginkan pada desikator dan dihitung

4. Perhitungan Kadar Abu (%)

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

### 3.5.4 Kadar Protein, Biuret dengan Spektrofotometer UV-Vis 600 nm (Indrawan, 2016)

a. Pembuatan Larutan Induks Bovin Serum Albumin (BSA)

1. BSA ditimbang sebesar 10 mg
2. Dilarutkan dalam aquades sebanyak 10 mL sampai homogen

b. Pembuatan Kurva Baku

1. Larutan induk, pereaksi biuret dan aquades dicampurkan dalam tabung reaksi
2. Diinkubasi selama 20 menit
3. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 600 nm

c. Cara Mempersiapkan Sampel

1. Sampel sebanyak 2 gram ditimbang
2. Sampel dilarutkan dalam aquades 20 mL hingga homogen
3. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring kemudian diambil filtrat sebanyak 3 mL
4. Larutan NaOH 10% sebanyak 1 mL ditambahkan
5. Pereaksi biuret sebanyak 1 mL ditambahkan
6. Diinkubasi 20 menit
7. Absorbansi dibaca pada Panjang gelombang 600 nm

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{\text{konsentrasi akhir}}{\text{konsentrasi awal}} \times \text{Faktor Pengenceran} \times 100\%$$

### 3.5.5 Kadar Lemak (AOAC, 2006)

1. Sebanyak 2 g sampe ditimbang, kemudin sampel dibungkus dengan selongsong dari kertas saring bebas minyak dan dimasukkan ke dalam tabung soxhlet. Pada saat ekstraksi sistem pendinginan dihidupkan dan tabung lemak diisi pelarut petroleum benzene 25 mL dan diekstraksi berlangsung selama 4 jam
2. Sesudah ekstraksi petroleum benzene yang telah mengandung minyak dipindahkan ke botol timbang dan diketahui berat
3. Kemudian dipanaskan diatas penangas air sampai sampel menjadi pekat. Botol konstan. Berat sampel dinyatakan sebagai berat minyak.

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

### 3.5.6 Karbohidrat *by different* (AOAC,2006)

$$\% \text{ Karbohidrat} = (100\% - \text{kadar air} - \text{kadar abu} - \text{kadar lemak} - \text{kadar protein})$$

### 3.5.7 *Swelling Power* (Senanayake, dkk. 2013)

1. Sampel ditimbang sebanyak 0,1 gram (A)
2. Sampe dicampurkan dengan 10 mL aquades dalam 15 mL tabung sentrifus yang telah diketahui beratnya
3. Sampel diaduk dengan vorteks selama 10 detik
4. Selanjutnya diempatkan pada penangas air suhu 85°C selama 30 menit dengan pengadukan berlanjut selama 10 detik dimana setelah 5, 15, dan 25 menit. Sampel diambil dari penangas air kemudian diaduk dengan menggunakan vorteks
5. Sampel yang telah dipanaskan kemudian didinginkan pada suhu ruang dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 menit
6. Supernatan diambil, kemudian ditimbang endapan (D)

7. Perhitungan *Swelling Power* (%)

8. *Swelling power* (%) =  $D/A$  (g/g)

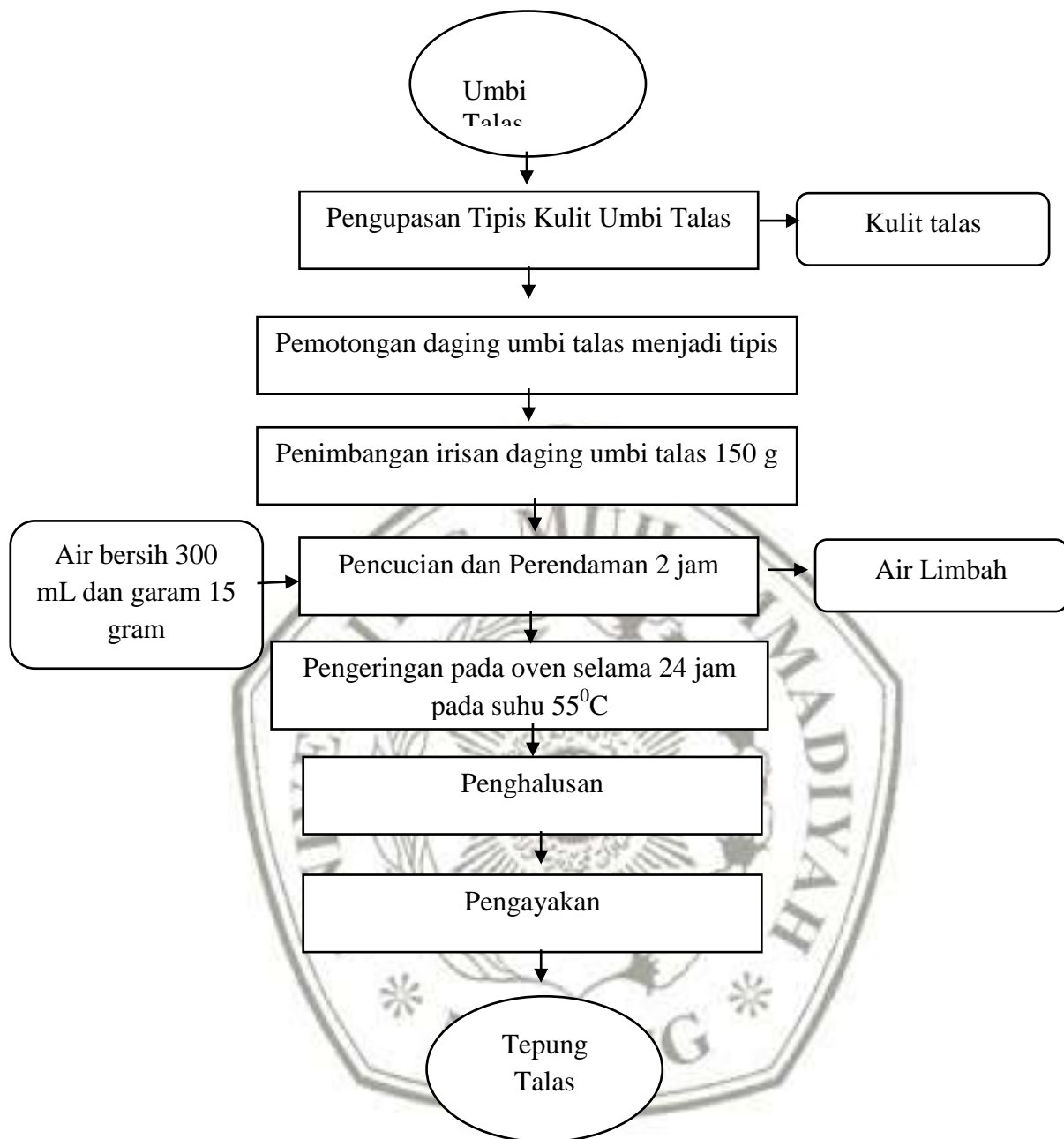
### 3.5. 8 *Scanning Electrone Microscope* (Hitachi High Technologies, 2010)

1. Alat dinyalakan sehingga lampu biru menyala
2. Spesimen dipersiapkan dengan meletakkan sampel pada *specimen stub*
3. Spesimen diletakkan pada alat mikroskop
4. Gambar akan muncul di layar monitor dan amati gambar. Dan dapat diedit dengan meningkatkan kontras dan kecerahan
5. Gambar disimpan
6. Alat dimatikan

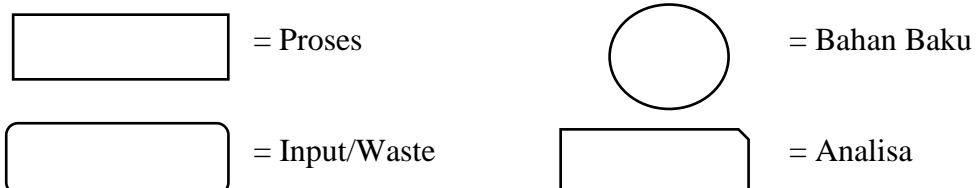
### 3.6 Analisa Data

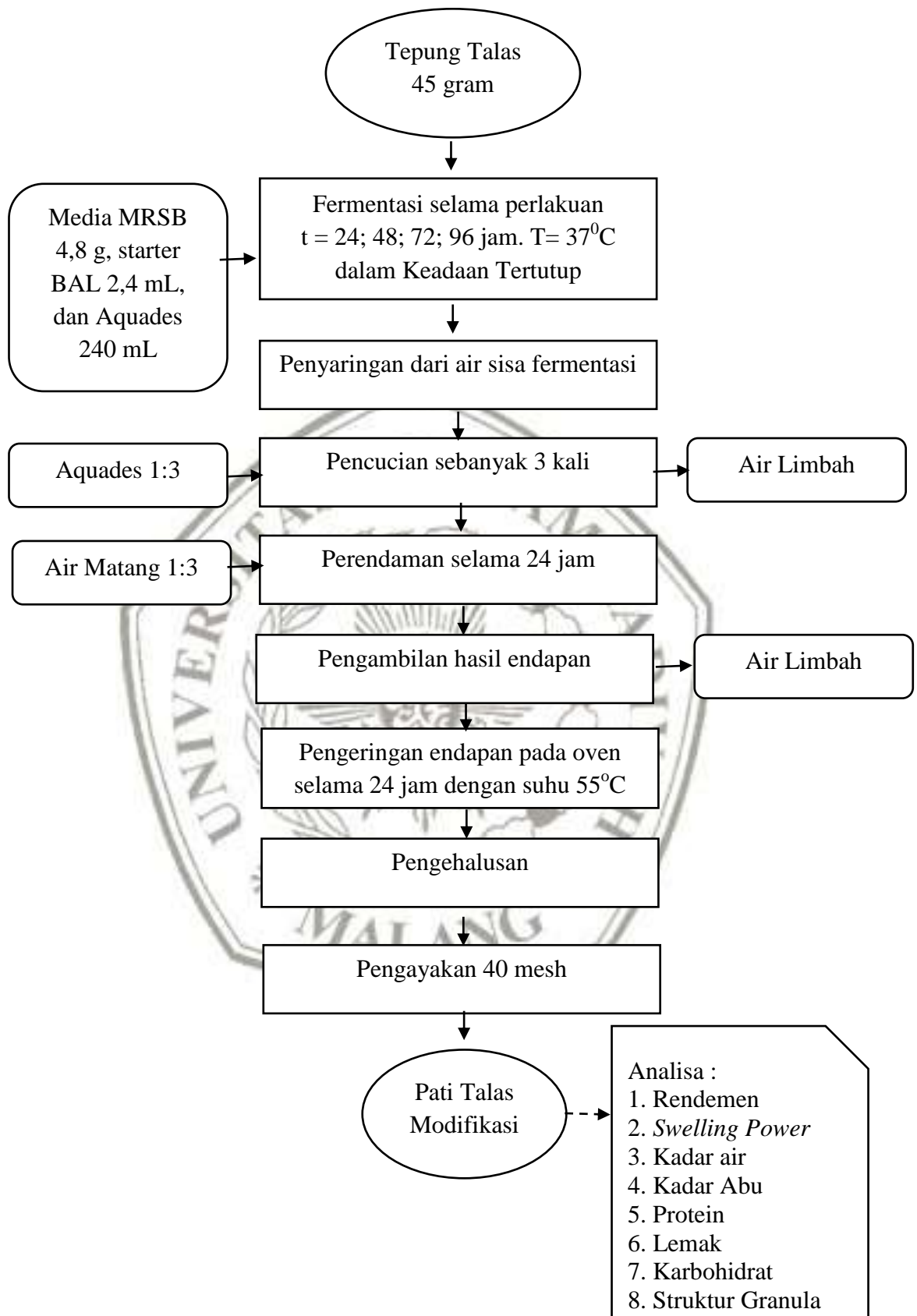
Penelitian ini menggunakan rancangan pola tersarang (*nested*) dan data pengamatan analisis kimia dan fisik, dianalisis menggunakan Analisa Ragam untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan jenis starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dan lama fermentasi (24 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam) serta dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Apabila hasil analisa menunjukkan pengaruh nyata, maka jika ada interaksi antar faktor dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk perlakuan berbeda nyata  $\alpha = 5\%$





Gambar 4. Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Talas (Cua, dkk. 2012)





Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Pati Talas Termodifikasi (Wira, dkk. 2015)